

**EXTRACT SOLUTION OF PERILLA FRUTESCENS BRITTON VAR. ACUTA KUDO
HAVING SUPPRESSING ACTION ON PRODUCTION OF TNF**

Patent number: JP7215884
Publication date: 1995-08-15
Inventor: KOSUNA KENICHI; YAMAZAKI MASATOSHI
Applicant: AMINO ATSUPU KAGAKU KK
Classification:
- international: **A23L1/30; A61K31/00; C07G17/00; C11B9/00;
A23L1/30; A61K31/00; C07G17/00; C11B9/00; (IPC1-
7): C11B9/00; A61K35/78; A23L1/30; A61K7/00;
A61K7/48; A61K35/78; C07G17/00**
- european:
Application number: JP19940330291 19941207
Priority number(s): JP19940330291 19941207; JP19930340686 19931208

Report a data error here

Abstract of JP7215884

PURPOSE:To obtain an extract solution of *Perilla frutescens* Britton var. *acuta* Kudo, capable of specifically suppressing the production of a tumor necrosis factor (TNF), greatly effective against allergic diseases such as atopic dermatitis and usable in the form of an antiallergic food, a healthy food, a cosmetic, a quasi-drug, etc. **CONSTITUTION:**This extract solution is obtained by removing perillaldehyde and a fraction having ≥ 1000 molecular weight from ingredients prepared by grinding a stem and a leaf of a plant of the family Labiatae and extracting the resultant ground stem and leaf with water, an organic solvent or a mixture solution thereof. The extract solution has suppressing actions on the production of a TNF.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-215884

(43) 公開日 平成7年(1995)8月15日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/78	A B F Q	8217-4C		
	A E D			
A 2 3 L 1/30		B		
A 6 1 K 7/00		K		
7/48				

審査請求 未請求 請求項の数 1 F D (全 8 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平6-330291

(22) 出願日 平成6年(1994)12月7日

(31) 優先権主張番号 特願平5-340686

(32) 優先日 平5(1993)12月8日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成5年6月20日、
日本炎症学会発行の「第14回日本炎症学会プログラム予
稿集」に発表

(71) 出願人 592196156

株式会社アミノアップ化学

北海道札幌市豊平区西岡三条12丁目2番9
号

(72) 発明者 小砂 憲一

北海道札幌市豊平区西岡5条12丁目7番22
号

(72) 発明者 山▲崎▼ 正利

東京都八王子市別所2丁目11番地 3-
303

(74) 代理人 弁理士 大家 邦久 (外1名)

(54) 【発明の名称】 T N F 産生抑制作用を有するシソ抽出液

(57) 【要約】

【構成】 シソ科植物の茎葉を磨砕し、水、有機溶剤ま
たはその混合液にて抽出処理して得られる成分からベリ
ルアルデヒドおよび分子量1万以上の画分を除去してな
るT N F 産生抑制作用を有するシソ抽出液。

【効果】 T N F 産生を特異的に抑制し、アトピー性皮
膚炎等のアレルギー疾患に大きな効果があり、抗アレル
ギー食品、健康食品、化粧品、医薬部外品等の形態で使
用できる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 シソ科植物の茎葉を磨碎し、水、有機溶剤またはその混合液にて抽出処理して得られる成分からペリラルデヒドおよび分子量1万以上の画分を除去してなるTNF産生抑制作用を有するシソ抽出液。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、シソ科植物を原料とするTNF産生抑制に有効な、新規な抽出液に関する。更に詳細には、TNF産生抑制によるアトピー性皮膚炎等のアレルギー改善に有効な新規な抽出液に関する。

【0002】

【発明の背景】 杉の花粉、チリ、動物の毛等による鼻炎、ダニ、牛乳等による蕁麻疹、アトピー性皮膚炎などその発症にアレルギー反応に関与するものは多い。アレルギーは、生体における抗原と抗体の反応によるものであり、生体の反応は弱く起こる場合と強く起こる場合とがあり、弱く起こる場合が免疫であり、強く起こる場合が過敏症である。過敏症は大別して、即時型過敏症と遅延型過敏症に分けられ、発症機構によりI～IV型に分けられる。現在問題になっているアレルギーは、圧倒的にI型が多い。

【0003】 一般的に、アレルギー反応とは、生体内で抗原抗体反応が起こる結果、生体の化学伝達物質であるヒスタミン、アセチルコリン、ブラディキニン、SRS-A（アナフィラキシーの遅反応性物質）などが遊離されて、これが組織を障害して起こる生体反応と解されている。このアレルギー反応の一種であるアトピー性皮膚炎は、ヒト、特に小児に特有な一定の物質に対する先天的過敏症のことをいい、更にすすんで気管支喘息、アレルギー性鼻炎、花粉症として発現し、この素因は遺伝し、食物や吸収される抗原に対し高度の過敏症を起こし易いことなどの特徴があるといわれている。

【0004】 アトピー性皮膚炎は、この様な素因の上に生じる皮膚炎であり、その自覚的な症状としては著名な掻痒感があり、かきこわしにより皮疹は憎悪し、慢性化するといわれている。従来このようなアトピー性皮膚炎に代表されるアレルギー疾患に対する治療法としては、抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤、ステロイド剤などの内服による全身療法がある。

【0005】 しかし、これらの内服薬いずれも医療薬であるため、処方および治療の際に医師の診断と指示が必要である。また、局所療法として副腎皮質ホルモン配合のステロイド軟膏があるが、急性疾患をきたすことがあり、また経皮吸収により内分泌系への悪影響が出るという欠点がある。一方、シソ科植物はその香気が最大の特徴であり、その主成分はペリラルデヒドであることが知られており、それは香料として使用されている。その反面、ペリラルデヒドはシソ栽培者のアレルギー型接触性皮膚炎の原因ともなることが知られている（皮膚病

診療：3(8), 713-176, 1981 及び、皮膚：24(2), 250-256, 1983)。

【0006】

【発明の経緯】 炎症・アレルギー反応に関する研究から、抗原侵入に対抗して白血球からサイトカインが出て作用することが判っていたが、そのサイトカインの一種である腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor : 以下TNFと略す。) がきわめて直接的に関係していることが、最近明らかとなった (Bonavida B. Biotherapy, 3, P127(1991))。そこで、本発明者らは、TNFの産生量を抑制することは、アトピー性皮膚炎等アレルギーの炎症を抑制することになると考え、鋭意研究を重ねた。その結果、シソ抽出液にはTNF産生抑制効果があり、さらに1万以上の高分子量領域の成分を除くと抑制効果が向上することを見出した。それとともに1万以上の高分子量領域を除くことにより抽出液の着色度が低下し、食品や化粧品などへの製品化に際し都合のよいことを確認した。

【0007】

【関連技術の説明】 従来、シソ抽出液としては、シソ流エキス (アルプス薬品工業) や、化粧品種別許可原料基準に記載のシソエキスが一般的に流通している。シソエキスに関連する特許も数多く報告されており (特開昭49-86516号、同50-6750号、同55-81896号、同57-53403号など)、本出願の発明者らもシソ科植物を原料とする食品 (特開平4-79852号) に関する特許出願をしているが、これらは香気成分であるペリラルデヒドを含有していたり、分子量1万以上の成分を含んでいるものである。

【0008】 一方、シソ科植物に含まれるロスマリン酸 (分子量：360) が、5-リボキシゲナーゼ作用阻害剤として有効であり、抗アレルギー剤もしくは抗アレルギー食品として利用できることが開示されている (特開昭56-99412号、特開平1-121217号など)。しかし、本発明者らが本発明のシソ抽出液から分離したロスマリン酸画分について、イン・ヴィトロ (in vitro) でTNF産生抑制作用を測定したところではTNF産生抑制作用は認めらず、またロスマリン酸画分を配合した化粧品 (クリーム) ではアトピー性皮膚炎の改善は認められなかった (後述の試験例参照)。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者らは、従来の欠点を解決するために、シソ科植物およびその近縁種に関して鋭意研究を行ない、シソ科植物の抽出液から分子量1万以上の画分を選択的に除去して得られる抽出液であってペリラルデヒドを含有しない成分がTNF産生を特異的に抑制することを見出し、これらのシソ抽出液がアトピー性皮膚炎等のアレルギー疾患に大きな効果があることを確認し、本発明を完成するに至った。

【0010】

【課題を解決するための手段】すなわち、本発明はシソ科植物の茎葉を磨砕し、水、有機溶剤またはその混合液にて抽出処理して得られる成分からペリラルデヒドおよび分子量1万以上の画分を除去してなるTNF産生抑制作用を有するシソ抽出液を提供したものである。

【0011】本発明で使用するシソとは、学名をペリラ・フルテセンス (*Perilla frutescens* Britton var. *crispa* DENSEおよび var. *acuta* Kudo)といい、その他近縁植物(Labiatae)でもよい。原産は、東インド、中国、東洋の温帯地方に広く栽培されている。本発明では、日本で生産される青シソ、青ちりめんシソ、赤シソ、ちりめんシソ、かためんシソなどが好適に使用できる。

【0012】抽出溶剤としては、水、有機溶剤およびその混合液が用いられるが、有機溶剤としては、メタノール、エタノール、イソプロパノール、プロピレングリコール等のアルコール類、アセトン、クロロホルム等が挙げられるが、特にエタノールおよびエタノール水溶液が好ましい。この時、抽出液中のペリラルデヒドは、ろ過処理（活性炭など）等により除去される。分子量1万以上の画分を除く方法としては、限外ろ過、親水性有機溶剤の添加、アンモニウム塩または無機金属塩の添加、ゲルろ過などを行なう。

【0013】抽出処理は一般的に以下に行なう。すなわち、シソの茎及び葉を磨砕し、これを溶剤に加えて、室温～50℃にて1～10時間攪拌しながら加熱する。次いで減圧ろ過して、ろ液に脱イオン水を加え、少量のプロテアーゼを添加し、室温～40℃程度の温度で1～24時間、時々攪拌しながら放置した後、限外ろ過を行なって分子量1万以上の画分を除く。その後、減圧濃縮し、活性炭層を通してろ過を行ない、ろ液を加熱殺菌してシソ抽出液を得る。

【0014】本発明の抽出液は、単独で、あるいはスプレードライや凍結乾燥、造粒乾燥などにより粉末化したものを原料として、抗アレルギー食品、健康食品、化粧品、医薬部外品、その他の形態で使用することができる。抗アレルギー食品とするには、通常摂取者が本抽出液を喫食できるような任意の食品形態とすれば良く、例えば抽出液単独、あるいは清涼飲料水、菓子、パン、めん類、ねり製品、お茶、ドレッシング、飴、キャンディ、ガム等が例示できる。

【0015】また、健康食品として使用する場合は、例えば単独、或いはシロップ剤、液剤、或いはスプレードライや凍結乾燥などにより粉末化した後、通常の方法で担体あるいは賦形剤と混合し、錠剤、糖衣剤、散剤、カプセル剤、ドライシロップ、顆粒剤等に製剤化された形態で使用できる。また、化粧品、医薬部外品とするには、例えば軟膏、リニメント剤、エアゾール剤、クリーム、石鹸、洗顔料、全身洗剤、シャンプー、リンス、トリートメント、整髪料、養毛剤、育毛剤、化粧水、ローション、メイクアップ化粧品、パック剤、ベビーパウ

ダー、入浴剤、シップ剤、パルプ・不織布等より製造したロールペーパーに含浸させた化粧水等が挙げられる。さらに、シソ抽出液を含浸させるなどして繊維製品とするには、使用者と直接に接する任意の形態とすれば良く、例えばタオル、肌着、靴下等が挙げられる。

【0016】

【実施例】以下、本発明の抗アレルギー性シソ抽出液の製造例および試験例を挙げて説明する。

【0017】〔製造例〕磨砕したチリメンシソ100gに対し、40%エタノール溶液400mlを加えて4時間、40℃にて攪拌抽出した。それを減圧ろ過し、ろ液に5リットルの脱イオン水を加え、少量のプロテアーゼを添加した後、12時間40℃にて時々攪拌しながら放置し、限外ろ過膜（アドバンテックウルトラフィルターQ100、分画分子量10,000）にて分子量1万以上の画分を除いた。限外ろ過の透過液を約150mlになるまで減圧濃縮し、次いで活性炭ろ過を行なった。ろ液を30分間90℃に加熱殺菌し、冷却後、褐色液体である100gのシソ抽出液を得た。

【0018】シソ抽出液の性状

上記の抽出液について、蛋白質（ケルダール法による）、脂質（エーテル抽出法による）、灰分（乾式灰化法による）、水分（常圧加熱乾燥法による）および炭水化物（前記各成分の残量として算出）の含有量を測定した結果を表1に示す。

【0019】

【表1】

表1：抽出液の成分分析

蛋白質	0.0重量%
脂質	0.0重量%
灰分	0.1重量%
水分	99.5重量%
炭水化物	0.4重量%

【0020】シソ抽出液中のペリラルデヒドの検出

上記の本発明のシソ抽出液（A）、および化粧品種別許可原料基準によるシソエキス（B）（丸善製薬製）について下記の条件でガスクロマトグラフィーによりペリラルデヒドの分析を行なった。

カラム：キャピラリーカラム（TC-WAX, 60m×0.25mm, I. D. 0.25μl）

検出器：FID

移動層ガス：ヘリウム

温度：220℃→230℃（昇温：1℃/分）

サンプル量：各サンプルをエタノールで5倍に希釈し同量をカラムに注入した。得られたガスクロマトグラムを図1に示す。すなわち、本発明のシソ抽出液はペリラルデヒドを含有しないことが分かる。

【0021】シソ抽出液の可視部吸光度

上記の本発明のシソ抽出液と限外ろ過膜を省いたシソ抽出液を、各々脱イオン水にて10倍(w/w)に希釈し、日立分光光度計U-2000(光路長1cm)により可*

*視部吸光度を測定した。その結果を表2に示す。すなわち、限外ろ過により着色度が低下したことが分かる。

【0022】

【表2】

表2：シソ抽出液の可視部吸光度

波長 (nm)	400	450	500	550	600
シソ抽出液 (本発明品)	0.126	0.051	0.026	0.014	0.008
シソ抽出液 (限外ろ過なし)	0.386	0.197	0.115	0.071	0.046

【0023】〔試験例〕以下の試験例により、免疫抑制機能に対する作用を説明する。

(1) イン・ビボ (in vivo) での腫瘍壊死因子 (TNF) 産生抑制作用

マウスにシソ抽出液サンプルを 0.4g 経口投与し、12時間後に免疫賦活剤

※ (OK432：商品名ピシバニール，中外製薬社製) を投与し、2時間後に血液を採取し、TNF活性を測定した。サンプル名および測定結果を表3に示す。

【0024】

【表3】

※20

表3：TNF産生抑制試験

サ ン プ ル	TNF活性 (U/ml)
対 照 (蒸留水)	468
シソ抽出液 (本発明品)	159
シソ抽出液 (限外ろ過なし)	339

【0025】表3から明らかな如く、シソ抽出液投与群のTNF産生量は約2/3に低下するが、限外ろ過によりさらに1/3まで低下し、免疫抑制作用が増強されていることが示された。

【0026】(2) イン・ビトロ (in vitro) でのTNF産生抑制作用

マウス腹腔より採取したマクロファージを試験サンプル溶液に加え、37℃で1時間インキュベーションした後、LPS (Lipopolysaccharide) により刺激し、2時間後にTNF活性を測定した。試験サンプルとして、40

対照 (蒸留水)、シソ抽出液 (本発明品) 及びロスマリン酸画分を使用した。ロスマリン酸画分は本発明のシソ抽出液からスチレン・ジビニルベンゼン系ポラスポリマー担体のオープンカラム (溶離液：水-メタノール) により分画後、減圧乾固し、さらに元の抽出液と等量の脱イオン水を加えたものである。測定結果を表4に示す。

【0027】

【表4】

表4：TNF産生抑制試験

サ ン プ ル	TNF比活性 (%)
対 照 (蒸留水)	100
シソ抽出液 (本発明品)	77
ロスマリン酸画分	102

【0028】表4から、シソ抽出液にはTNF産生抑制効果があり、その効果はロスマリン酸によるものでないことが明らかである。

*明のシソ抽出液を毎日0.5 g 飲用してもらい、10日後に判定した。試験結果を表4に示す。

【0030】

【表5】

【0029】(3) 投与試験

アトピー性皮膚炎の被験者7人(A~G)に対し、本発*

表5：抽出液飲用試験

被検者		A	B	C	D	E	F	G
性別		女	女	女	女	男	男	男
年齢		24	18	23	5	4	34	24
評価項目	掻痒	○	○	○	○	○	△	○
	落屑	○	○	△	○	○	×	○
	紅斑	○	△	○	○	○	×	△

○：顕著に軽減

△：やや軽減

×：変化なし

【0031】以上より、シソ抽出液の飲用は、アトピー性皮膚炎に対し有効であることが明らかとなった。

本発明のシソ抽出液を、表6の組成で配合したクリームを調製したところ、すべての処方でも外観上および粘性上全く問題のないクリームが得られた。

【0032】(4) クリームへの配合試験および使用試験

【0033】

【表6】

(i) クリームへの配合試験

表6：クリームへの配合処方

配 合 原 料	配合例（重量％）			
	a	b	c	d
シ ソ 抽 出 液	5	3	0	0
ロスマリン酸画分	0	0	5	0
ス テ ア リ ン 酸	15	15	15	15
セ タ ノ ー ル	2	2	2	2
流 動 パ ラ フ ィ ン	1	1	1	1
オクチルドデカノール	1	1	1	1
グ リ セ リ ン	12	12	12	12
水 酸 化 カ リ ウ ム	0.5	0.5	0.5	0.5
精 製 水	63.5	65.5	63.5	68.5

【0034】(ii)クリーム使用試験

アトピー性皮膚炎の被験者各々35人に対し上記表6に示すシソ抽出液配合クリーム（a：被検者数35名）、ロスマリン酸画分配合クリーム（c：被検者数10名）および対照クリーム（d：被検者数35名）を毎日患部に塗布してもらい、4週間後に下記の基準により判定した。

○：かなり改善（掻痒、紅斑、落屑、浸潤がほとんど消

30 失した。）

△：やや改善（掻痒、紅斑、落屑、浸潤がやや軽減した。）

×：不変（掻痒、紅斑、落屑、浸潤が不変であった。）

試験結果を表7にまとめて示す。

【0035】

【表7】

表7：シソ抽出液配合クリームによるアトピー症状の改善

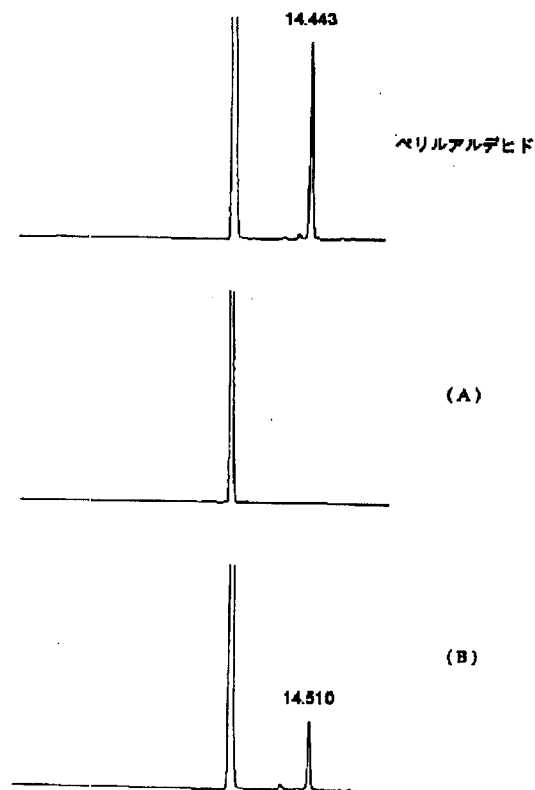
	シソ抽出液 配合クリーム (a)	ロスマリン酸 配合クリーム(c)	対 照 クリーム (d)
掻 痒	○	×	×
紅 斑	○	×	×
落 屑	○	×	×
侵 潤	○	×	×

【0036】表7の結果より、シソ抽出液配合クリームの掻痒などのアトピー性皮膚炎に対し有効性が示され、その効果はロスマリン酸によるものではないことが分かる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のシソ抽出液(A)、化粧品種別許可原料基準によるシソエキス(B)、および標品としてのペリラルデヒドのガスクロマトグラムである。

【図1】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 G 17/00		Z		
// C 1 1 B 9/00		Z 2115-4H		